抗生素在鸡蛋及鸡体组织中的代谢研究

毛智琼[1,2], 刘兴利[2*], 马国明[2], 吴 艳[2], 郑传威[2], 徐桂云[1*]

(1. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193; 2. 北农大科技股份有限公司, 北京 100083)

摘 要: 目的 探究蛋鸡养殖业中广泛使用且在市场鸡蛋中检出频率较高的 3 种抗生素: 氟苯尼考(florfenicol, FF)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)、多西环素(doxycycline, DOX)在鸡蛋及鸡体组织中的代谢情况。**方法** 试验选取健康的 103 日龄育成鸡和 300 日龄产蛋鸡各 105 只, 均分成 7 组, 分别为 FF 低、FF 高、ENR 低、ENR 高、DOX 低、DOX 高以及对照组。“低”代表说明书正常用量, “高”代表正常用量的一倍, 以肌肉注射的方式连续给药 5 d, 对鸡只接受抗生素后一段时间内所产鸡蛋及鸡体组织中药物残留情况进行检测分析。**结果** 103 日龄育成鸡使用抗生素后, 至鸡只 130 日龄时所产鸡蛋中能检测到 FF 残留, 150 日龄时所产鸡蛋中能检测到 ENR 和 DOX 残留, 3 种抗生素还造成蛋鸡肝脏组织表面不同程度的出血和坏死; 300 日龄产蛋鸡注射抗生素后, FF 在蛋清、蛋黄中消除的时间分别为 10、12 d; ENR 在蛋清、蛋黄中消除的时间均为 9 d; DOX 在蛋清、蛋黄中消除的时间均为 25 d。**结论** 蛋鸡育成后期使用抗生素会对初产鸡蛋及鸡的肝脏组织造成一定影响, 针对我国市场动物源性食品中频繁检出抗生素等问题, 建议关注蛋鸡后备期抗生素的使用, 不断强化市场监督机制和准入门槛, 保障鸡蛋安全, 维护人体健康。

关键词: 氟苯尼考; 恩诺沙星; 多西环素; 鸡蛋; 鸡体组织

Metabolism of antibiotics in eggs and chicken body tissue

MAO Zhi-Qiong[1,2], LIU Xing-Li[2*], MA Guo-Ming[2], WU Yan[2],
ZHENG Chuan-Wei[2], XU Gui-Yun[1*]

(1. *College of Animal Science and Technology*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100193, *China*;
2. *Beinongda Technology Co*., *Ltd*., *Beijing* 100083, *China*)

ABSTRACT: Objective To explore the metabolism of 3 kinds of antibiotics: Florfenicol (FF), enrofloxacin (ENR) and doxycycline (DOX) in eggs and chicken tissues, which are widely used in laying hen breeding industry and frequently detected in eggs in the market. **Methods** A total of 105 healthy 103-day-old broilers and 105 healthy 300-day-old layers were selected and divided into 7 groups, namely, low FF, high FF, low ENR, high ENR, low DOX, and high DOX, and control group. The word “low” represented the normal dosage in the instruction, “high” represented one time of the normal dosage, the drug was continuously administered by intramuscular injection for

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-40)、现代农业产业技术体系北京市家禽创新团队项目(BAIC04–2021)

Fund: Supported by the China Agriculture Research System of Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Affairs (CARS-40), and the Modern Agricultural Industry Technology System Beijing Poultry Innovation Team Project (BAIC04–2021)

***通信作者:** 刘兴利, 兽医师, 主要研究方向为动物疫病防控及健康养殖。E-mail: bjliuxl@163.com

徐桂云, 教授, 主要研究方向为动物遗传育种与家禽品质检测。E-mail: ncppt@cau.edu.cn

***Corresponding author:** LIU Xing-Li, Veterinarian, Beinongda Technology Co., Ltd., Jinma Building Hotel, No.38, Xueqing Road, Haidian District, Beijing 100083, China. E-mail: bjliuxl@163.com

XU Gui-Yun, Professor, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, No.2, Yuanmingyuan West Road, Haidian District, Beijing 100193, China. E-mail: ncppt@cau.edu.cn

5 days to detect and analyze the drug residues in the eggs and body tissues of chickens within a period of time after receiving antibiotics. **Results**　After the 103-day-old broilers were treated with antibiotics, FF residues could be detected in the eggs laid by 130-day-old broilers, and ENR and DOX residues could be detected in the eggs laid by 150-day-old broilers, the 3 kinds of antibiotics also caused hemorrhage and necrosis of liver tissue surface of laying hens to different degrees; after 300-day-old laying hens were injected with antibiotics, the elimination time of FF in egg white and yolk was 10 and 12 days, respectively; the removal time of ENR in egg white and yolk was 9 d; the elimination time of DOX in egg white and yolk was 25 d. **Conclusion**　The use of antibiotics in the later stage of laying hens will have a certain impact on the first-laid eggs and the liver tissues of chickens. In view of the frequent detection of antibiotics in animal-derived foods in China's market, it is suggested to pay attention to the use of antibiotics in the reserve period of laying hens, and constantly strengthen the market supervision mechanism and access threshold to ensure the safety of eggs and maintain human health.

KEY WORDS: florfenicol; enrofloxacin; doxycycline; eggs; chicken body tissue

0　引　言

近年来, 国家食品安全监管部门通报了多批次鸡蛋及蛋鸡组织中检出抗生素残留的情况, 这对人体健康和生态环境构成了潜在威胁, 同时抗生素药物的使用严重制约着养殖业的可持续发展。为此, 国家政府部门和养殖企业都在积极采取一系列措施来保障鸡蛋质量安全[1−2]。2021 年 4 月 1 日, 我国最新实施的 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定了 25 种药物禁止用于产蛋期, 而一些抗生素在育成期允许被使用。据调查, 育成期使用抗生素不会对初产鸡蛋造成影响, 且国内外有关抗生素在育成期的代谢研究较少。在实际生产中, 为了预防和治疗蛋鸡疾病, 养殖场(户)依然存在滥用抗生素、不遵守休药期等现象, 导致市场鸡蛋频频检出抗生素药物残留。本研究对文献报道频次较多、市场鸡蛋中检出率较高的 3 种抗生素: 氟苯尼考(florfenicol, FF)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)、多西环素(doxycycline, DOX)(又称强力霉素)进行试验, 研究蛋鸡生产中使用抗生素后, 其在鸡蛋及鸡体组织中的代谢时间, 为养殖场(户)制定合理休药期提供理论支撑, 期望对我国蛋鸡养殖业科学、合理规避风险提供参考建议, 保障鸡蛋安全, 维护人体健康。

1　材料与方法

1.1　试验药品及用量

氟苯尼考注射液[含量 15%, 说明书用量: 鸡 0.13 mL/(kg·bw), 生产批号: 20050401, 河南普旺生物工程有限公司]; 恩诺沙星注射液[含量 10%, 说明书用量: 鸡 0.2 mL/(kg·bw), 生产批号: 20060902, 四川省川龙动科药业有限公司]; 盐酸多西环素注射液(IV)[含量 10%, 说明书用量: 鸡 0.2 mL/(kg·bw), 生产批号: 20190401, 广东万士达动物药业有限公司]。

1.2　试验动物及分组

试验动物选择健康状况良好的 103 日龄和 300 日龄海兰褐蛋鸡各 105 只, 平均体重分别为(1.36±0.09) kg、(1.66±0.11) kg, 饲养于农业农村部家禽品质监督检验测试中心(北京)。育成期和产蛋期试验各分为 7 组, 分别为: 氟苯尼考低剂量组(记为 FF 低)、氟苯尼考高剂量组(记为 FF 高)、恩诺沙星低剂量组(记为 ENR 低)、恩诺沙星高剂量组(记为 ENR 高)、多西环素低剂量组(记为 DOX 低)、多西环素高剂量组(记为 DOX 高)以及对照组, 每组 15 只鸡, 分为 5 个重复、每个重复 3 只。

1.3　试验方法及指标测定

试验鸡群自由采食和饮水, 在正式试验之前先预饲一周, 观察鸡群健康状况和产蛋情况, 每天对鸡舍消毒一次。低剂量组给药量为药品说明书用量, 高剂量组给药量为低剂量组给药量的 2 倍。给药方式为肌肉注射, 每天 1 次, 连续给药 5 d。

103 日龄试验鸡群: 对最早开产的个体所产鸡蛋进行留存, 收集 130 日龄、140 日龄、150 日龄、160 日龄各时间点试验鸡所产鸡蛋, 每个重复 3 枚鸡蛋充分混合并分装在留样管中, –20℃的条件下保存待检。

300 日龄试验鸡群: 对用药第 2 d (301 日龄)、第 4 d (303 日龄), 停药后第 1 d (305 日龄)、第 5 (309 日龄)、14 (318 日龄)、21 (325 日龄)、28 d (332 日龄)……所产鸡蛋测定其蛋黄、蛋清中的药物残留情况, 直至检测不出为止。停药第 2 d 各组分别屠宰 3 只鸡, 取肝脏(全肝)、卵巢(去除发育较大的卵黄)、肌肉(胸肌)100~200 g, 所取样品不做任何处理, 做好标记, 在–20℃保存待检。

1.4 数据处理

数据采用 Excel 2013 软件统计，用 SPSS 20.0 进行分析，使用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)对药物残留情况进行统计分析，采用 Duncanny's 多重比较对各处理组和对照组的药物残留结果进行比较，设定 $P<0.05$ 为差异有统计学意义，试验结果以"平均值±标准差"表示。

2 结果与分析

2.1 育成期(103 日龄)使用抗生素对初产鸡蛋的影响

各试验组测定了试验鸡开产后 130 日龄、140 日龄、150 日龄、160 日龄所产鸡蛋中抗生素的含量，测定结果见表 1。在育成后期使用 FF、ENR、DOX 这 3 种抗生素后，初产鸡蛋中仍可以检测到药物浓度。130 日龄，FF 高剂量组所产鸡蛋中可检测到 FF，FF 低剂量组所产鸡蛋中未检出 FF 残留。140 日龄，FF 高、低剂量组所产鸡蛋中均未检测到 FF 残留。150 日龄，ENR 高、ENR 低剂量组所产鸡蛋中可检测到 ENR，DOX 高剂量组所产鸡蛋中可检测到 DOX 残留，DOX 低剂量组所产鸡蛋中检测不到 DOX 残留。160 日龄，3 种药物高低剂量组所产鸡蛋中均检测不到药物残留。

2.2 育成期(103 日龄)使用抗生素对鸡体组织的影响

研究结果表明，对育成后期蛋鸡肌肉注射抗生素后，鸡群整体健康状况良好，未出现死亡现象，采食行为和采食量以及饮水状况均与对照组鸡群无差异，未有其他异常情况出现。但解剖试验鸡发现，3 种抗生素的使用都会对育成期蛋鸡肝脏组织造成一定的影响。与对照组相比，注入 FF、ENR、DOX 等抗生素后，鸡体肝脏组织表面均出现异常，临床特征表现为肝脏表面存在较大的出血点或者出血条状，而该种现象在高剂量组蛋鸡肝脏中表现得更加明显。其中 DOX 高对肝脏的影响呈现出黑色的坏死点状，且分布面积较大，这也证明了四环素类药物的巨大危害性。

2.3 产蛋期(300 日龄)鸡只注射 FF 后鸡蛋中检出情况

试验鸡注射给药后第 2 d 便可在所产蛋中检测到 FF 沉积，随着给药时间的增长，整体 FF 在蛋黄、蛋清中积累浓度逐步上升。停止给药后，鸡蛋中积累的药物开始代谢，检测结果显示，停药后第 2 d 蛋黄、蛋清中药物浓度开始下降，蛋清中药物代谢速度较快。与蛋清中药物代谢相比，蛋黄中药物代谢速度较为缓慢。停药第 10 d 时蛋清检测不到 FF，而蛋黄中仍有较低的检出量。停药第 12 d 时，FF 高、低剂量组蛋黄和蛋清中，均已检测不到 FF，表明 FF 在鸡蛋中代谢结束。试验还表明，FF 在蛋黄中的检出浓度高于蛋清。结果见表 2。

表 1 103 日龄蛋鸡使用抗生素后初产鸡蛋中药物残留测定结果(μg/kg)

Table 1 Test results of drug residues in first-laid eggs of 103-day-old laying hens after antibiotic use (μg/kg)

组别	检测结果				检出限
	130 日龄	140 日龄	150 日龄	160 日龄	
FF 高	0.10±0.10	ND	ND	ND	0.1
FF 低	ND	ND	ND	ND	0.1
ENR 高	$1.34\pm0.10^{a,x}$	$1.38\pm0.05^{a,x}$	$1.21\pm0.04^{b,x}$	ND	1.0
ENR 低	$0.87\pm0.03^{c,y}$	$1.31\pm0.05^{a,x}$	$1.21\pm0.04^{b,x}$	ND	1.0
DOX 高	$815.00\pm4.90^{a,x}$	$504.33\pm2.86^{b,x}$	78.22 ± 2.77^{c}	ND	50
DOX 低	$631.00\pm4.08^{a,y}$	$131.00\pm1.63^{b,y}$	ND	ND	50

注：ND 表示未检出，或小于检出限，每个样品为 3 枚鸡蛋完全混合，每组 3 个样品。a、b、c 表示同行数据差异性分析结果，字母相同表示差异不显著($P>0.05$)，字母不同表示差异显著($P<0.05$)；x、y 表示同列数据差异性分析结果，字母相同表示差异不显著($P>0.05$)，字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

表 2 鸡蛋中 FF 检出结果(μg/kg)

Table 2 Test results of FF in eggs (μg/kg)

组别	时间	给药第 2 d	给药第 4 d	停药第 2 d	停药第 5 d	停药第 7 d	停药第 10 d	停药第 12 d	停药第 13 d
FF 低	蛋黄	697.50 ± 6.50^{c}	737.00 ± 3.00^{a}	724.50 ± 2.50^{b}	323.00 ± 1.00^{d}	27.40 ± 0.20^{e}	0.45 ± 0.01^{f}	ND	ND
	蛋清	687.50 ± 3.50^{a}	632.50 ± 1.50^{b}	109.50 ± 1.50^{c}	38.05 ± 0.25^{d}	2.92 ± 0.01^{e}	ND	ND	ND
FF 高	蛋黄	1010.00 ± 5.00^{c}	2230.00 ± 50.00^{a}	1455.00 ± 5.00^{b}	639.50 ± 4.50^{d}	156.00 ± 1.00^{e}	0.63 ± 0.01^{f}	ND	ND
	蛋清	1080.00 ± 10.00^{b}	2145.00 ± 5.00^{a}	228.50 ± 1.50^{c}	75.20 ± 0.40^{d}	2.81 ± 0.01^{e}	ND	ND	ND

注：每个样品为 3 枚鸡蛋分蛋黄、蛋清混合，每组 3 个样品；ND 表示未检出，不同小写字母表示同行数据差异性分析，字母相同表示差异不显著($P>0.05$)，字母不同表示差异显著($P<0.05$)，下同。

2.4　产蛋期(300 日龄)鸡只注射 ENR 后鸡蛋中的检出情况

试验鸡注射给药后第 2 d 可在鸡蛋中检测到 ENR 的标志化合物, 随着给药时间的增加, ENR 在鸡蛋中的积累程度进一步加大, 表明 ENR 在鸡蛋中的沉积速度很快。停止给药后, 蛋黄和蛋清中药物浓度缓慢降低。与停药第 2 d 相比, 停药第 5 d 时, 鸡蛋中 ENR 的浓度呈直线式下降。停药第 9、10 d 时, 高低剂量组的蛋黄和蛋清中均已检测不到 ENR 的残留, 对此本研究认为 ENR 在鸡蛋中完全消除。试验还表明, ENR 在蛋清中的分布程度高于蛋黄。结果见表 3。

2.5　产蛋期(300 日龄)鸡只注射 DOX 后鸡蛋中的检出情况

试验鸡给药后第 2 d, DOX 高、低剂量组蛋黄、蛋清中 DOX 沉积均呈现一个高的浓度水平。随着给药时间的增加, 蛋黄、蛋清中 DOX 积累量也逐步增加。给药第 4 d 时, 鸡蛋中 DOX 积累量达到峰值水平。给药周期结束后, 蛋黄、蛋清中的药物检出浓度逐渐降低, 但结果显示, DOX 在鸡蛋中的代谢速度整体比较慢。停药第 23 d 时, 蛋黄、蛋清中 DOX 检出量才到一个较低水平。停药第 25 d 时, DOX 高、低剂量组蛋黄、蛋清中均已检测不到 DOX, 为保证试验准确度, 本研究还检测了停药第 26 d 时所产鸡蛋中 DOX 的浓度, 结果表明, 蛋黄、蛋清中均已检测不到 DOX 的存在。本研究结果还表明, DOX 在蛋清中的沉积程度高于蛋黄。结果见表 4。

2.6　产蛋期使用抗生素后在蛋鸡组织器官中的沉积情况

试验在停药第 2 d 时, 对蛋鸡组织器官中各种药物及其化合物残留进行检测, 结果见表 5。FF 在鸡体组织器官中的积累量从高到低的顺序为: 肌肉>卵巢>肝脏; ENR 在鸡体组织中更易积累的部位为卵巢>肌肉>肝脏; DOX 在鸡体组织器官中的积累量由高到低为肝脏>卵巢>肌肉, 这也和本研究中 DOX 对蛋鸡组织的危害相吻合, 体现出以 DOX 为代表的四环素类药物对肝脏危害较大。

表 3　鸡蛋中 ENR 检出结果(μg/kg)
Table 3　Test results of ENR in eggs (μg/kg)

组别	时间	给药第 2 d	给药第 4 d	停药第 2 d	停药第 5 d	停药第 7 d	停药第 9 d	停药第 10 d
ENR 低	蛋黄	477.00±1.00^{c}	1310.00±0.60^{b}	1380.00±1.20^{a}	289.50±0.50^{d}	51.60±0.10^{e}	ND	ND
	蛋清	2180.00±1.00^{a}	1615.00±5.00^{b}	1500.00±50.00^{c}	85.70±0.20^{d}	9.89±0.10^{e}	ND	ND
ENR 高	蛋黄	1050.00±0.80^{c}	5610.00±7.90^{a}	4040.00±1.00^{b}	587.00±2.00^{d}	102.00±3.00^{e}	ND	ND
	蛋清	3035.00±3.10^{c}	6965.00±5.00^{a}	4020.00±10.00^{b}	288.00±0.70^{d}	26.00±0.50^{e}	ND	ND

表 4　鸡蛋中 DOX 检出结果(μg/kg)
Table 4　Test results of DOX in eggs (μg/kg)

组别	时间	给药第 2 d	给药第 4 d	停药第 2 d	停药第 5 d	停药第 7 d	停药第 15 d	停药第 21 d	停药第 23 d	停药第 25 d	停药第 26 d
DOX 低	蛋黄	119.00±2.00^{d}	456.00±5.00^{b}	475.00±2.00^{a}	436.00±7.00^{c}	196.00±2.00^{e}	232.50±2.50^{f}	92.40±1.40^{g}	28.00±2.00^{h}	ND	ND
	蛋清	208.00±1.00^{f}	524.50±21.50^{a}	388.50±1.50^{d}	234.50±16.50^{e}	419.50±1.50^{b}	408.50±6.50^{c}	66.80±1.90^{g}	65.70±3.70^{g}	ND	ND
DOX 高	蛋黄	122.50±1.50^{e}	1150.00±5.00^{a}	965.00±5.00^{b}	719.00±15.00^{c}	390.50±0.50^{d}	114.50±1.50^{f}	98.50±5.00^{g}	30.40±2.00^{h}	ND	ND
	蛋清	266.00±1.00^{e}	1445.00±25.00^{a}	729.00±3.00^{b}	496.50±3.50^{d}	531.00±1.00^{c}	156.50±2.50^{f}	128.30±2.00^{g}	80.10±5.00^{h}	ND	ND

表 5　抗生素在试验鸡组织器官中的检出结果(μg/kg)
Table 5　Test results of antibiotics in tissues and organs of chickens (μg/kg)

组别	肝脏	卵巢	肌肉
FF 低	0.21±0.01^{c}	12.50±0.10^{a}	5.70±0.30^{b}
FF 高	0.29±0.01^{c}	23.80±0.40^{b}	25.50±0.350^{a}
ENR 低	30.80±0.20^{b}	62.40±0.10^{a}	25.80±0.20^{c}
ENR 高	63.90±1.60^{c}	278.50±0.50^{a}	112.50±0.50^{b}
DOX 低	450.50±11.50^{a}	224.50±4.50^{b}	143.00±2.00^{c}
DOX 高	638.00±23.00^{a}	331.50±1.50^{b}	335.50±3.50^{b}

注: 每组样本量 n=3, a、b、c 表示同行数据差异性分析, 字母相同表示差异不显著(P>0.05), 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

3　讨　论

3.1　鸡蛋形成过程及抗生素残留

鸡输卵管由漏斗部、膨大部、峡部、子宫和阴道构成。蛋黄的形成分为白色卵泡期、中间期、快速沉积期 3 个阶段, 卵母细胞在卵巢内生长发育时, 卵黄物质在卵巢内逐渐积累增多, 并形成黄卵黄和白卵黄相间排列的卵黄结构。白卵黄含有较多的蛋白质, 黄卵黄富含类脂物质, 而快速沉积期被认为是抗生素药物残留最容易发生的阶段[2−3]。卵泡成熟排出卵黄后, 在漏斗部短暂停留后进入

膨大部(蛋白分泌部), 逐步形成蛋白后转移至峡部并形成内外壳膜, 有研究表明蛋白逐步形成阶段也是药物残留的重要时期[4]。

抗生素药物在食品中的残留已经成为不争的事实, 很大程度上已经污染了人类食品供应链, 严重危害着人类身体健康。人们日常生活中必需的肉蛋奶等畜禽产品以及水产品、蔬菜中药物残留主要有两个来源: 人类对药物的主观使用和动、植物生活在被抗生素污染的环境中导致其产品中含有抗生素的非主观积累[5]。人类主观使用主要是指人类治疗和预防疾病时采取肌肉、皮下、静脉注射的方式使用, 对动物而言, 促生长类药物通过饲料、饮水的方式给药, 或者为提高饲料转化率而使用的饲料添加剂; 非主观积累是指被抗生素污染的水源灌溉和用作有机肥料的动物粪便[6−7], 但总体来说人类对抗生素药物的滥用是导致药物残留的主要原因。

3.2 FF 代谢时间

FF 因其生物利用度高、渗透性强等特点被广泛应用于猪[8]、牛[9]、鱼[10−11]、家禽[12−13]生产中, 其在动物体内主要的代谢产物为氟苯尼考胺(florfenicol amine, FFA)[14]。研究表明, 以 20 mg/kg 连续口服给药 3 d, FF 在鸡体内完全消除的时间为 7 d[15], 其中代谢产物主要为 FF(占 42%), 其次为 FFA(占 25%)。姚宜林[16]研究表明, 蛋鸡体内以 50 mg/(kg·bw)剂量口服给药 FF、连续给药 5 d, 蛋清、蛋黄中药物浓度达到峰值的时间为停药后第 1、第 3 d, 且 FF 在蛋清中的代谢快于蛋黄, 这与本研究产蛋期氟苯尼考代谢研究结果一致。FILAZI 等[13]研究表明, 以 20 mg/(kg·bw)肌肉注射给药 1 d, 蛋清、蛋黄中药物完全消除的时间分别为 7、8 d。与本研究结果存在差异的主要原因为药物检出限设置不同造成(文献报道检出限为 1.94 μg/kg), 本研究 FF 检出限设置为 0.1 μg/kg, 结果更为准确。

由于 FF 对人体潜在的毒性作用, 欧盟、美国、加拿大等国家或地区已禁止使用于畜禽生产中, 我国 GB 31650—2019 规定, FF 在家禽及畜类泌乳期禁止使用, 但在育成期允许使用, 规定在鸡组织中 FF 最大残留限量值, 肌肉 100 μg/kg、肝组织 2500 μg/kg、肾组织 750 μg/kg。本研究中, FF 连续给药 5 d 后, 肌肉、肝脏、卵巢组织中 FF 残留低于规定值, 且在鸡体组织中药物积累部位为肌肉>卵巢>肝脏。

FF 在育成后期蛋鸡中的消除时间表明, 103 日龄海兰褐蛋鸡肌肉注射 FF 后, FF 低组试验鸡在开产后 130 日龄所产鸡蛋中未检测到药物残留, FF 高试验组鸡所产鸡蛋中检测到 FF 残留。到 140 日龄时, 试验鸡所产鸡蛋中才检测不到药物残留。尽管 FF 在育成期允许被使用, 但有关抗生素在育成期的代谢研究较少, 彭平彩等[17]研究结果表明, 在蛋鸡育成期使用抗生素阿莫西林, 其鸡粪中阿莫西林药物代谢速度较慢, 残留时间较长。

3.3 ENR 代谢时间

ENR 具有较好的生物利用度, 因此常被用作治疗一些感染性疾病[18−19]。有关 ENR 药代动力学的研究表明, 对来航鸡以 20 mg/(kg·bw)肌肉注射给药后, 血浆达峰浓度为 2.702 μg/mL, 消除半衰期为 5.26 h[20]。ENR 在畜禽体内吸收速度快, 代谢过程中会产生其他化合物质如环丙沙星等。研究表明, 蛋鸡体内以 10 mg/(kg·bw)口服给药 ENR 5 d, 停药 72 h 后仍可在蛋黄中检测到环丙沙星及其代谢产物[21]。CORNEJO 等[22]以 10 mg/(kg·bw)口服给药 5 d, 结果表明, 蛋清和蛋黄中药物消除期分别为 4、9 d。GHARIEB 等[23]研究结果表明, 鸡体内以 10 mg/(kg·bw)剂量连续口服 5 d 环丙沙星后, 蛋清、蛋黄中药物消除期均为 7 d。文献报道与本研究结果存在差异的主要原因可能与给药途径不同有关, ENR 适口性较差, 口服吸收效果相比肌肉注射较差。另一方面与检测方法也有关, 近年来随着人们对食品安全问题的高度关注, 动物源性食品中抗生素类污染物的检测技术要求也越来越高, 随着检测方法不断的改进, 检测结果也更加准确。本研究表明, 停止给药 11 d 后, 高低剂量组蛋黄和蛋清中均检测不到 ENR 残留, ENR 药物累积蛋清大于蛋黄, 这也符合 ENR 代谢速度快这一特点。

我国有关 ENR 在家禽鸡体靶组织中允许的最大残留限量规定为: 肌肉 100 μg/kg、肝脏 200 μg/kg、肾脏 300 μg/kg。本研究中, 连续给药 5 d 后, ENR 低剂量组鸡体组织器官中抗生素残留浓度均低于规定值。而 ENR 高剂量肝脏中药物浓度为 63.9 μg/kg, 卵巢中药物浓度为 278 μg/kg, 肌肉中药物浓度为 112 μg/kg, 高于规定值, 且 ENR 在鸡体组织中的最易积累部位为卵巢。

ENR 在育成后期蛋鸡中的消除时间表明, 对 103 日龄海兰褐蛋鸡连续肌肉注射给药 5 d 后, 在蛋鸡开产后 130 日龄时, 鸡蛋中仍可以检测到 ENR 的残留, 本研究还发现在 140 日龄、150 日龄开产鸡蛋的药物检测中, ENR 的浓度存在升高的趋势, 这可能是药物检测过程中的机器灵敏度或者其他试验条件不同所造成, 同样的情况在 OMIJA 等[24]研究中也存在。蛋鸡开产后 160 日龄, 蛋黄、蛋清中才检测不到 ENR 药物残留。我国国家兽药基础数据库中有关 ENR 休药期规定为 8 d, 针对 ENR 在蛋鸡育成后期的消除时间, 建议养殖场(户)使用 ENR 在育成期治疗蛋鸡疾病时, 需严格按照兽医处方规定用药, 在育成后期应严格控制或避免药物的使用。

3.4 DOX 代谢时间

四环素类药物因其对环境及人体健康等具有严重危害性而备受关注。研究表明, 在鸡体内以 20 mg/(kg·bw)单次口服 DOX 后, 达到血药浓度峰值的时间为 1 h, 血浆中

药物半衰期为 6.4 h。在鸡体内, 以 20 mg/(kg·bw)灌喂 DOX 后, 0.78 h 后便可达到血药浓度峰值, 最大血药浓度为 2.8 μg/L, 消除半衰期为 6.36 h[25]。DOX 具有良好的组织渗透性, 对血浆蛋白具有高结合能力, 因此消除半衰期较长[26–27]。以 20 mg/(kg·bw)口服 DOX 后, 达到最大血药浓度的平均时间为 2 h, 平均最大血药浓度达到 15.33 mg/L[28]。对于 DOX 的药代动力学研究也有人指出, 家禽品种间肠道系统的差异可能会影响其血药浓度峰值[29], 这种差异与饲粮、日龄、体重、肠道差异等因素均存在关系。10%盐酸 DOX 可溶性粉以 3000 mg/L 饮水给药 5 d 后, 建议其在鸡蛋中的弃蛋期为 38 d[30]。GAJDA 等[31]研究表明, 以 10 mg/(kg·bw)口服给药 5 d 后, 蛋清、蛋黄中药物消除期均为 13 d。据报道, DOX 以 10~40 mg/(kg·bw)剂量持续给药 4~5 d 后, 其在肉鸡中的修药期为 5~9 d[32-33]。本研究中低剂量组以 20 mg/(kg·bw)、高剂量组以 40 mg/(kg·bw)肌肉注射给药 5 d, 蛋清、蛋黄中药物消除期均为 25 d。

连续给药第 5 d 后, DOX 在鸡体组织中的积累结果表明, 积累部位肝脏>卵巢>肌肉, DOX 在肝脏中积累较多的原因可能是药物需要通过肝脏组织进行代谢。我国规定, DOX 在家禽鸡体靶组织中允许的最大残留限量为: 肌肉 100 μg/kg、肝脏 300 μg/kg、肾脏 600 μg/kg。本研究中, 各鸡体组织中药物浓度远高于规定值。在实际生产中, DOX 的过量使用可能会在动物可食性组织中沉积, 并引起皮肤损伤、血液毒性等不良反应。以 20 mg/(kg·bw)口服给药 5 d 后, 肝脏、肌肉组织中的浓度分别为 19.83、13.59 μg/kg。

DOX 在蛋鸡育成后期消除时间表明, 对 103 日龄海兰褐蛋鸡连续肌肉注射给药 5 d 后, DOX 低剂量组试验鸡 130 日龄所产鸡蛋中 DOX 的浓度高达 631.00 μg/kg, 140 日龄时试验鸡所产鸡蛋中 DOX 浓度为 131.00 μg/kg, 至 150 日龄时, DOX 低剂量组试验鸡所产鸡蛋中才检测不到 DOX 的存在, 可见其在鸡蛋和组织中代谢时间缓慢。结合本试验育成后期试验鸡解剖结果来看, DOX 对肝脏组织的影响较为严重, 肝脏组织表面体现为组织坏死点, 这也表明 DOX 作为四环素类药物对机体组织的巨大伤害, 建议养殖场(户)需特别注意四环素类药物的使用。

本试验开展蛋鸡育成后期抗生素的代谢时间研究, 能够较好地说明育成后期使用抗生素会对初产鸡蛋造成一定的影响。针对 FF、ENR、DOX 在蛋鸡育成后期的消除时间, 建议养殖场(户)使用抗生素药物在育成期治疗蛋鸡疾病时, 需严格按照兽医处方规定用药, 特别是在育成后期应严格控制或避免药物的使用, 提高安全意识, 保证禽类产品的质量安全。

4　结　论

蛋鸡育成后期使用 FF、ENR、DOX 会对初产鸡蛋及肝脏组织造成一定影响, 针对我国市场动物源性食品中抗生素残留问题, 建议加强基层养殖场(户)人员培训, 提升食品安全意识。关注蛋鸡后备期抗生素的使用, 从源头减少或者控制抗生素的使用, 不断强化市场监督机制和市场准入门槛, 保障鸡蛋安全, 维护人体健康。

参考文献

[1] 毛智琼, 金永才, 刘璇, 等. 我国与欧盟、美国、国际食品法典委员会的禽蛋抗生素类兽药残留限量标准对比分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 4034–4040.
MAO ZQ, JIN YC, LIU X, *et al*. Comparative analysis of the residue limit standards of antibiotic veterinary drugs for poultry eggs in China and CAC, EU, US [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(12): 4034–4040.

[2] GBYLIK-SIKORSKA M, LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA B, GAJDA A, *et al*. Transfer of enrofloxacin, ciprofloxacin, and lincomycin into eggshells and residue depletion in egg components after multiple oral administration to laying hens [J]. Poult Sci, 2021, 100(9): 101341.

[3] 陈佳静, 张冬冬, 赖兴富, 等. 常用抗生素在鸡体内消除和鸡蛋中残留的规律研究进展[J]. 中国家禽, 2020, 42(3): 82–91.
CHEN JJ, ZHANG DD, LAI XF, *et al*. Research progress of antibiotics elimination in chicken and residue in egg [J]. China Poult, 2020, 42(3): 82–91.

[4] GOETTING V, LEE KA, TELL LA. Pharmacokinetics of veterinary drugs in laying hens and residues in eggs: A review of the literature [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2011, 34(6): 521–556.

[5] LIU X, STEELE JC, MENG X. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review [J]. Environ Pollut, 2017, 223: 161–169.

[6] HUANG R, GUO Z, GAO S, *et al*. Assessment of veterinary antibiotics from animal manure-amended soil to growing alfalfa, alfalfa silage, and milk [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 224: 112699.

[7] AZANU D, MORTEY C, DARKO G, *et al*. Uptake of antibiotics from irrigation water by plants [J]. Chemosphere, 2016, 157: 107–114.

[8] SMET JD, BOYEN F, CROUBELS S, *et al*. Similar gastro-intestinal exposure to florfenicol after oral or intramuscular administration in pigs, leading to resistance selection in commensal *Escherichia coli* [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 1265.

[9] JONG A, THOMAS V, SIMJEE S, *et al*. Antimicrobial susceptibility monitoring of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe: The VetPath study [J]. Vet Microbiol, 2014, 172(1–2): 202–215.

[10] YANEZ AJ, VALENZUELA K, MATZNER C, *et al*. Broth microdilution protocol for minimum inhibitory concentration (MIC) determinations of the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* to florfenicol and oxytetracycline [J]. J Fish Dis, 2014, 37(5): 505–509.

[11] BARRETO F, RIBEIRO C, BARCELLOS HOFFR, *et al*. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry, swine, bovine and fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2016, 1449: 48–53.

[12] BELLO A, POZNIAK B, SMUTKIEWICZ A, *et al*. The influence of the site of drug administration on florfenicol pharmacokinetics in turkeys [J]. Poult Sci, 2022, 101(1): 101536.

[13] FILAZI A, SIRELI UT, YURDAKOK B, *et al*. Depletion of florfenicol and florfenicol amine residues in chicken eggs [J]. Brit Poult Sci, 2014, 55(4): 460–465.

[14] ZHOU D, LI Y, HUANG L, *et al*. A reliable and cost-efficient TLC-HPLC method for determining total florfenicol residues in porcine edible tissues [J]. Food Chem, 2020, 303: 125399.

[15] LI X, CHEN L, YUE H, *et al*. Depletion of florfenicol and florfenicol amine in eggs of laying hens and growing pullets after oral administration [J]. Food Addit Contam Part A, 2020, 37(9): 1449–1458.

[16] 姚宜林. 鸡蛋中甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留检测方法及其消除规律的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
YAO YL. Studies on detection method and elimination of residues of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs of laying hens [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2010.

[17] 彭平彩, 廖新俤, 邹永德, 等. 三种兽药在育成期蛋鸡粪中的排泄规律[C]. 中国畜牧兽医学会 2013 年学术年会, 2013.
PENG PC, LIAO XD, ZOU YD, *et al*. Excreti law of three veterinary drugs in laying chicken manure during growing period [C]. Academic Annual Meeting of China Animal Husbandry and Veterinary Society in 2013, 2013.

[18] SLANAL M, ZIGON D, SOLLNER-DOLENC M. Enrofloxacin degradation in broiler chicken manure under field conditions and its residuals effects to the environment [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2017, 24(15): 13722–13731.

[19] SCHULZ J, KEMPER N, HARTUNG J, *et al*. Analysis of fluoroquinolones in dusts from intensive livestock farming and the co-occurrence of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 5117.

[20] 冯万宇, 陈亮, 苗艳, 等. 恩诺沙星悬乳剂肌注给药在鸡体内的药动学研究[J]. 家禽科学, 2022, (5): 20–24, 54.
FENG WY, CHEN L, MIAO Y, *et al*. The pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite in chickens [J]. Poult Sci, 2022, (5): 20–24, 54.

[21] GBYLIK-SIKORSKA M, LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA B, GAJDA A, *et al*. Transfer of enrofloxacin, ciprofloxacin, and lincomycin into eggshells and residue depletion in egg components after multiple oral administration to laying hens [J]. Poult Sci, 2021, 100(9): 101341.

[22] CORNEJO J, LAPIERRE L, IRAGUEN D, *et al*. Study of enrofloxacin and flumequine residues depletion in eggs of laying hens after oral administration [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2012, 35(1): 67–72.

[23] GHARIEB MM, ATTLI NMA. Ciprofloxacin drug residue in table egg [J]. SCVMJ, 2011, 16(2): 137–138.

[24] OMIJA B, MITEMA ES, MAITHO TE. Oxytetracycline residue levels in chicken eggs after oral administration of medicated drinking water to laying chickens [J]. Food Addit Contam, 1994, 11(6): 641–647.

[25] 程倍倍. 强力霉素在麻鸡体内的药代动力学与组织分布的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
CHENG BB. Studies on pharmacokinetics and tissue distribution of doxycycline in partridge chicken [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2017.

[26] HY SOH, TAN PXY, NG TTM, *et al*. A critical review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety data of antibiotics in avian species [J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(6): 741.

[27] GAJDA A, SZYMANEK-BANY I, NOWACKA-KOZAK E, *et al*. Risk to public health regarding doxycycline residues in chicken claws [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(8): 2495–2500.

[28] TEKELI IO, TURK E, DURNA CORUMD, *et al*. Pharmacokinetics, bioavailability and tissue residues of doxycycline in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) after oral administration [J]. Food Addit Contam A, 2020, 37(12): 2082–2092.

[29] MAHMOUD M, ABDEL-MOHSEIN HS. Hysterical tetracycline in intensive poultry farms accountable for substantial gene resistance, health and ecological risk in Egypt-manure and fish [J]. Environ Pollut, 2019, 255(Pt 1): 113039.

[30] 欧亚红. 盐酸多西环素可溶性粉及替米考星可溶性粉在鸡蛋的残留消除研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
OU YH. Study on residue elimination of doxyycline hydrochloride soluble powder and tilmicosin soluble powder in eggs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.

[31] GAJDA A, POSYNIAK A. Doxycycline depletion and residues in eggs after oral administration to laying hens [J]. Food Addit Contam A, 2015, 32(7): 1116–1123.

[32] MESTORINO N, ZEINSTEGER P, BUCHAMER A, *et al*. Tissue depletion of doxycycline after its oral administration in food producing chicken for fattening [J]. Int J Avian Wildlife Biol, 2018, 3(3): 252–257.

[33] FLAMMER K, MASSEY JG, MEEK CJ, *et al*. Assessment of plasma concentrations and potential adverse effects of doxycycline in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) fed a medicated pelleted diet [J]. J Avian Med Surg, 2013, 27(3): 187–193.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介

毛智琼, 硕士, 主要研究方向为动物遗传育种与家禽品质检测。
E-mail: zhiqiong_mao@163.com

刘兴利, 兽医师, 主要研究方向为动物疫病防控及健康养殖。
E-mail: bjliuxl@163.com

徐桂云, 教授, 主要研究方向为动物遗传育种与家禽品质检测。
E-mail: ncppt@cau.edu.cn